

PLAQUETOMETRIA EM CÃES COM NEOPLASIA

(Platelet count in dogs with neoplasia)

Daniele Von Krüger Amaral¹, Ana Pérola Drulla Brandão, Gabriela Maffezzolli, Sandra Vogel Seixas, Renato Silva de Sousa, Rosangela Locatelli Dittrich

¹Correspondência: dvonkruger@gmail.com

RESUMO: Na avaliação das plaquetas em cães utilizam-se metodologias estabelecidas e importantes na conduta terapêutica dos animais. Esta proposta objetivou correlacionar os índices plaquetários de cães com neoplasia com os índices de cães saudáveis. Neste estudo também foram comparadas a contagem de plaquetas por dois métodos (automatizado e estimativa em lâmina). Foram utilizadas 64 amostras de sangue de cão (Grupo 1 com 49 animais com neoplasia e o Grupo 2 com 15 animais saudáveis). Os parâmetros estabelecidos foram: contagem total de plaquetas (PLT), Volume Plaquetário Médio (VPM), amplitude de variação plaquetária (PDW) e plaquetócrito (PCT). Os resultados foram comparados entre cães com ou sem neoplasia e também com o tipo de neoplasia (benigna, maligna e mista). Confeccionou-se uma extensão sanguínea para contagem manual de plaquetas. Análises descritivas foram realizadas com distribuição de frequências, médias e desvios-padrão. A correlação entre a contagem de plaquetas automática e manual apresentou um coeficiente de correlação forte positiva ($R = 0,834$, $P < 0,001$). A média do parâmetro PCT no Grupo 1 foi superior ao do Grupo 2 ($P = 0,032$). Na avaliação de correlação entre os parâmetros plaquetários foi encontrada uma correlação positiva muito forte entre PLT e PCT ($R = 0,984$ $P < 0,05$) e uma correlação positiva moderada entre VPM e PCT ($R = 0,800$ $P < 0,05$). A contagem de plaquetas automatizada apresentou boa correlação com a estimativa de plaquetas em lâmina. O valor de plaquetócrito foi maior e estatisticamente significativo em animais com neoplasia. Os parâmetros de concentração de plaquetas e plaquetócrito podem ser interpretados associados por possuírem uma boa correlação, assim como o volume plaquetário médio com o plaquetócrito.

Palavras-chave: PDW; plaqueta; plaquetócrito; VPM

ABSTRACT: In the evaluation of platelets in dogs, established methodologies are used with great importance in the therapeutic management of animals. This proposal aimed to compare the automatic platelet count and the estimate in blood smear and the correlation of platelet levels in healthy dogs and dogs with neoplasia. 64 canine blood samples were used (Group 1 with 49 animals with neoplasia and Group 2 with 15 healthy animals). The parameters analyzed were: Platelet count (PLT), Mean Platelet Volume (MPV), Platelet Distribution Width (PDW) and Plateletcrit (PCT). The results were analyzed and compared with the patient data referred to the existence or not of neoplasia and also with the type of neoplasia (benign, malignant and mixed). A smear blood was made for manual platelet count. Descriptive analysis were performed using frequency distribution, mean and standard deviations. The correlation between automatic and manual platelet counts showed a strong positive correlation coefficient ($R = 0.834$, $P < 0.001$). The average PCT parameter in Group 1 was higher than Group 2 ($P = 0.032$). In the evaluation of correlation among platelet parameters, it was found a strong positive correlation between PLT and PCT ($R = 0.984$ $P < 0.05$) and a moderate positive correlation between MPV and PCT ($R = 0.800$ $P < 0.05$). The automated hematology counter showed good correlation with the estimated platelets on the smear blood. It was observed that the plateletcrit value showed a statistically significant increase in animals with neoplasia. The concentration parameters of platelets and plateletcrit can be inferred together once they have a good correlation, as well as the mean platelet volume with plateletcrit.

Key Words: MPV; PDW; plateletcrit; platelet

Recebido em 06/03/2016

Aprovado em 07/12/2016

INTRODUÇÃO

As plaquetas são o terceiro componente celular do sangue periférico, depois dos eritrócitos e leucócitos, e muitas vezes são negligenciadas na avaliação hematológica. Os parâmetros plaquetários não devem ser subestimados, uma vez que em torno de 90% das doenças hemorrágicas em cães e gatos resultam de anormalidades do número ou na função de plaquetas (Stokol e Erb, 2007).

A contagem de plaquetas é uma ferramenta reconhecida para o diagnóstico de doenças e sua análise e avaliação permite determinar diversos parâmetros plaquetários, especialmente em pacientes que estão com sangramento ou quando uma trombocitopenia ou trombocitose extrema está presente (Wiwanitkit, 2004).

A trombocitopenia é a anormalidade hemostática mais significativa em cães portadores de neoplasias (Oliveira et al., 2013). Essa alteração é resultado da produção diminuída de plaquetas pela medula óssea devido à liberação de citocinas inibidoras ou aumento do consumo/destruição de plaquetas por alterações endoteliais (Shaw e Ihle, 1999; Ogilvie, 2004). Muitos tipos de neoplasias são associados à trombocitopenia, incluindo carcinomas, sarcomas, linfomas e leucemias, porém algumas vezes essa alteração pode ser resultante de infecções ou terapias concomitantes (Chisholm-Chait, 2000), por isso todos os parâmetros devem ser avaliados com o exame físico e o histórico clínico do paciente.

A trombocitose ocorre devido ao aumento da produção de plaquetas, diminuição da retirada da circulação ou do sequestro plaquetário (Stockham e Scott, 2011). Entre as causas de trombocitose primária por proliferação neoplásica da medula óssea estão a

mielofibrose e as leucemias plaquetárias e megacarioblástica (Mandell, 2000). Em neoplasias malignas não hematológicas a trombocitose pode resultar da inflamação associada ou de produção de citocinas trombopoéticas (Interleucina-6) pelas células neoplásicas (Levine, 1999).

Na avaliação das plaquetas em cães utilizam-se metodologias estabelecidas e com grande importância no direcionamento da conduta terapêutica dos animais. A contagem estimada de plaquetas foi relatada pela primeira vez na Medicina Veterinária por Tveden et al. (1988).

O método de estimativa em lâmina é utilizado para identificar possíveis alterações como agregação plaquetária, presença de macroplaquetas, inclusões parasitárias e também quando há discrepância de resultados nas contagens automatizadas. Os métodos atuais para estimativa de plaquetas foram desenvolvidos com base em estudos com contadores automatizados, o qual utiliza a multiplicação por um fator que transforma o número de plaquetas por campo em número de plaquetas por mm³. A estimativa em esfregaço é uma técnica rápida e barata, cuja funcionalidade auxilia na calibração de aparelhos automatizados (Tasker et al., 2001).

Os contadores hematológicos automatizados podem fornecer resultados confiáveis e de maneira rápida, além de fornecer diversos parâmetros plaquetários, como: concentração de plaquetas (PLT), volume plaquetário médio (VPM), amplitude de distribuição das plaquetas (PDW) e plaquetócrito (PCT).

A concentração de plaquetas (PLT) é o número de plaquetas por volume de sangue, sua utilização possui grande importância na rotina clínica, pois auxilia no acompanhamento e avaliação da hemostasia primária. O Volume Plaquetário Médio (VPM) é o

volume médio aparente de todas as partículas em uma amostra de sangue que são contadas como plaquetas individuais, é uma variável biológica relacionada à função e a atividade plaquetária. O aumento ou a diminuição do VPM é importante, pois tais alterações podem estar relacionadas com determinadas patologias (Abidi *et al.*, 2007).

A amplitude de distribuição das plaquetas ou PDW (Platelet Distribution Width) é uma avaliação de anisocitose plaquetária calculada a partir da distribuição de volumes plaquetários individuais. O plaquetócrito (PCT) é a porcentagem de volume sanguíneo preenchido pelas plaquetas, trata-se de uma avaliação da massa de plaquetas circulantes (Stockham e Scott, 2011). Os índices plaquetários estabelecidos nos equipamentos automatizados são relativamente novos. A interpretação e a aplicação na rotina laboratorial são limitadas e com escassa bibliografia. Esta proposta objetiva comparar dois métodos de contagem de plaquetas, automático e a estimativa em lâmina, além de correlacionar índices plaquetários em cães saudáveis e com neoplasia, e entre os tipos de neoplasia, benigna e maligna.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de abril a julho de 2015 foram utilizadas amostras de sangue de animais da espécie *Canis familiaris*, procedentes da rotina de atendimento clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná (HV-UFPR). As amostras foram encaminhadas em tubos com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Paraná.

No presente estudo foram analisadas 64 amostras de sangue de cães. O Grupo 1 foi composto por 49

animais de diversas raças, com 3 a 14 anos de idade, de ambos os sexos, com diagnóstico citológico/histopatológico de neoplasia. O Grupo 2 foi composto por 15 animais de diversas raças, adultos, machos e fêmeas, clinicamente saudáveis, sem alterações hematológicas e nos perfis bioquímicos, atendidos no HV-UFPR para realização de procedimentos eletivos.

No grupo 1 as neoplasias foram classificadas como benigna, maligna ou mista (quando o animal apresentava uma neoplasia benigna e outra maligna), a fim de determinar se houve correlação entre a concentração de plaquetas (PLT) com o tipo de neoplasia.

As amostras foram analisadas no equipamento hematológico automático (BC-2800 Vet, Mindray®, Nanshan, China), para obtenção de valores e parâmetros de eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Este equipamento utiliza o método de contagem por impedância elétrica. A mudança na impedância elétrica gerada é proporcional ao tamanho da célula à medida que essa passa pela abertura (Olsen *et al.*, 2004). Os parâmetros do equipamento referente às plaquetas, tais como: PLT, VPM, PDW e PCT foram analisados e comparados com dados do paciente referentes a existência ou não de neoplasia.

Imediatamente após a coleta de sangue foi confeccionada a extensão sanguínea, que foi posteriormente corada com coloração de Romanowsky (Panótico Rápido) para contagem manual de plaquetas das 64 amostras analisadas. A contagem foi realizada em aumento de 100 vezes. A média do número de plaquetas encontradas em cinco campos foi multiplicada por uma constante de 20 mil unidades resultando no número estimado de plaquetas (Stockham e Scott, 2011). As amostras e lâminas que continham agregados

plaquetários não foram incluídas neste estudo.

Os dados foram armazenados em planilhas (Microsoft Excel® 2010) e posteriormente analisados com o software estatístico SPSS (versão 17.0). Análises descritivas foram realizadas com distribuição de frequências, médias e desvios-padrão. A normalidade e variância de cada parâmetro plaquetário foram testadas com a finalidade de compará-los entre os grupos 1 e 2. O teste t para variâncias iguais foi utilizado ao nível de 5% de significância. Os valores das 64 amostras obtidos através da contagem manual e automática de plaquetas além da análise entre PLT x VPM, PLT x PDW, PLT x PCT, VPM x PDW, VPM x PCT e VPM x PCT, foram correlacionados pelo coeficiente de correlação de Pearson.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A correlação entre a contagem de plaquetas automática e manual em lâmina nas 64 amostras apresentou um coeficiente de correlação forte positiva ($R = 0,834$, $P < 0,001$) indicando que as duas formas de contagem obtiveram resultados semelhantes.

O gráfico e equação da correlação entre a contagem manual em lâmina e a contagem automática de plaquetas nos 64 cães estão apresentados na Figura 1.

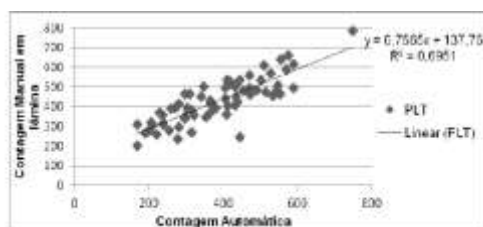


Figura 1 – Gráfico da correlação de Pearson da contagem manual em lâmina e contagem automática de plaquetas em cães

Silva e colaboradores (2007) compararam a contagem de plaquetas por três métodos: estimativa em lâmina, hemocítometro e contador hematológico

automático, e este último apresentou correlação com os outros dois métodos.

Na comparação entre os grupos, o valor médio da contagem automatizada de plaquetas encontrado no Grupo 1 foi de 442,20 ($\pm 122,94$) e no Grupo 2 foi de 385,00 ($\pm 75,11$) com um valor de $P = 0,094$.

No estudo realizado por Ferreira et al. (2012), foram encontrados valores de PLT de 259,04 ($\pm 42,83$) e Silva et al. (2012) encontraram valores de 259,633 ($\pm 183,903$) para contagem em esfregaço sanguíneo e 279.766 ($\pm 190,760$) no analisador automático. Apesar de haver diferenças numéricas entre os valores encontrados neste estudo comparados a outros trabalhos, os valores se encontram dentro do intervalo de referência estabelecido para a espécie.

Entre os cães com neoplasia e saudáveis não houve diferença estatística entre os parâmetros PLT, VPM e PDW. No entanto, a média do parâmetro PCT no Grupo 1 foi superior ao do Grupo 2, apresentando uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0,032$) (Tabela 1). O plaquetócrito em comparação com a concentração de plaquetas pode representar melhor o potencial funcional total de plaquetas e o estímulo trombopoietico (Kuter, 1996).

Tabela 1 - Média e desvio padrão dos parâmetros de PLT, VPM, PDW e PCT em amostras de sangue de cão.

	Grupo 1		Grupo 2		
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Valor de P
PLT* (u/L)	400,918 ^a	129,839	331,866 ^a	108,546	0,086
VPM* (fL)	8,651 ^a	0,917	8,473 ^a	1,134	0,537
PDW* (%)	15,802 ^a	0,273	15,707 ^a	0,296	0,254
PCT* (%)	0,344 ^a	0,109	0,278 ^b	0,085	0,032

*PLT= Contagem Total de plaquetas; *VPM= Volume Plaquetário Médio; *PDW= Amplitude de variação plaquetária; *PCT= Plaquetócrito. a = letras iguais apresentam ausência de diferença estatística; b = letras diferentes apresentam diferença estatística.

Os 49 animais que compuseram o Grupo 1 foram classificados de acordo com o tipo de neoplasia (benigna, maligna ou mista). Na contagem total de plaquetas os valores de referência utilizados para a espécie *Canis familiaris* foi de 200 a 500.000 plaquetas/uL (Feldman, 2000). Valores entre 200 e

500.000 plaquetas/uL foram considerados como normal, abaixo de 200.000 plaquetas/uL foram classificados como trombocitopenia e acima de 500.000 plaquetas/uL, foram denominadas como trombocitose.

O Grupo 1 foi composto por 12 animais com neoplasia benigna (quatro adenomas mamários, um épulis fibromatoso, um fibroleiomioma, dois hemangiomas, um hemangiopericitoma, um histiocitoma, um lipoma e um tumor venéreo transmissível), 25 com neoplasia maligna (seis adenocarcinomas, três carcinomas, um carcinoma de células escamosas e mastocitoma, dois hemangiossarcomas, dois linfomas, seis mastocitomas, três melanomas, um osteossarcoma e um sarcoma pouco diferenciado) e 12 animais com neoplasia maligna e benigna (mista), sendo um caso de adenoma e adenocarcinoma mamário; um adenoma, adenocarcinoma mamário e hemangioma; um adenocarcinoma mamário, hemangioma e lipoma; um mastocitoma e melanocitoma.

Não foi encontrada nenhuma associação entre o tipo de neoplasia e a contagem total de plaquetas (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores de P para contagem total de plaquetas em neoplasias benignas, malignas e mistas do grupo 1 para valores normais, com trombocitose e trombocitopenia, em amostras de sangue de cão.

Tipo de neoplasia	Contagem total de plaquetas		
	Normal	Trombocitose	Trombocitopenia
Benigna	1,000	1,000	1,000
Maligna	0,980	0,560	0,491
Mista	1,000	0,708	1,000

A análise estatística isolada de cada tipo de neoplasia, como média e desvio padrão, não foi realizada devido a maioria das neoplasias apresentarem apenas um caso. Apesar de não haver associação entre a contagem de plaquetas e o tipo de neoplasia neste trabalho, alguns autores citam alterações na concentração de plaquetas em determinados tipos de câncer (Ribas *et al.*, 2005; Sasaki *et al.*,

1999; Silva *et al.*, 2010; Rodigheri *et al.* 2008).

No trabalho realizado por Ribas e colaboradores (2015) em cadelas com neoplasia mamária, observou-se que a ocorrência de trombocitose foi maior do que a ocorrência de trombocitopenia. Sasaki *et al.* (1999) relataram em casos de carcinoma a presença de trombocitose, sendo atribuído à ação de interleucina-6, fator estimulador de colônias de granulocítica/macrofágica produzidos por células do próprio tumor.

Silva *et al.* (2010) observaram uma redução na contagem plaquetária associada ao linfoma. No linfoma em cães pode ocorrer diminuição no número de plaquetas por sequestro esplênico devido ao elevado consumo ou destruição imunomediada (Ettinger, 2003).

Nos casos de mastocitoma, os grânulos dos mastócitos contêm uma série de compostos biologicamente ativos, entre eles fator ativador de plaquetas, porém Rodigheri *et al.* (2008) relataram dois casos de mastocitoma os quais não apresentaram alterações na contagem de plaquetas, assim como neste estudo onde cinco dos seis casos de mastocitoma apresentaram contagens de plaquetas dentro dos valores de referência e apenas um apresentava trombocitose discreta.

Na avaliação de correlação entre os parâmetros plaquetários em ambos os grupos, foi encontrada uma correlação positiva muito forte entre PLT e PCT ($R = 0,984$ $P < 0,05$) e uma correlação positiva moderada entre VPM e PCT ($R = 0,800$ $P < 0,05$), os demais parâmetros correlacionados não apresentaram valor de R estatisticamente significativo (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de correlação de Pearson entre os parâmetros plaquetários PLP, VPM, PDW e PCT analisados no equipamento de hematologia BC-2800 Vet (Mindray®, Nanshan, China), em amostras de sangue de cão.

Variáveis	R	Valor de P
PLT ^a x VPM ^b	-0,220	0,080
PLT ^a x PDW ^c	-0,206	0,102
PLT ^a x PCT ^d	0,948	0,000
VPM ^b x PDW ^c	0,567	0,000
VPM ^b x PCT ^d	0,800	0,532
PDW ^c x PCT ^d	-0,045	0,728

^aPLT= Contagem Total de plaquetas (/uL); ^bVPM= Volume Plaquetário Médio (/uL); ^cPDW= Amplitude de variação plaquetária (%); ^dPCT= Plaquetócrito (%).

A correlação entre PLT e PCT descrita por Ferreira et al. (2012) foi de $R = 0,776$, semelhante a encontrada neste estudo. O aumento na contagem total de plaquetas (PLT) resulta no aumento dos valores de PCT, uma vez que o plaquetócrito corresponde a percentagem do volume sanguíneo preenchido pelas plaquetas. No mesmo trabalho realizado por Ferreira et al. (2012) também houve correlação entre VPM e PCT com valor de $R = 0,388$, assim como neste trabalho. A correlação entre as duas variáveis se deve ao fato de que os valores de plaquetócrito são calculados com base no VPM e na concentração de plaquetas para sua determinação (Stockham e Scott, 2011).

Na Figura 2 estão representadas as correlações entre PLT e VPM (Gráfico A), PLT e PDW (Gráfico B), PLT e PCT (Gráfico C), VPM e PDW (Gráfico D), VPM e PCT (Gráfico E) e PDW e PCT (Gráfico F).

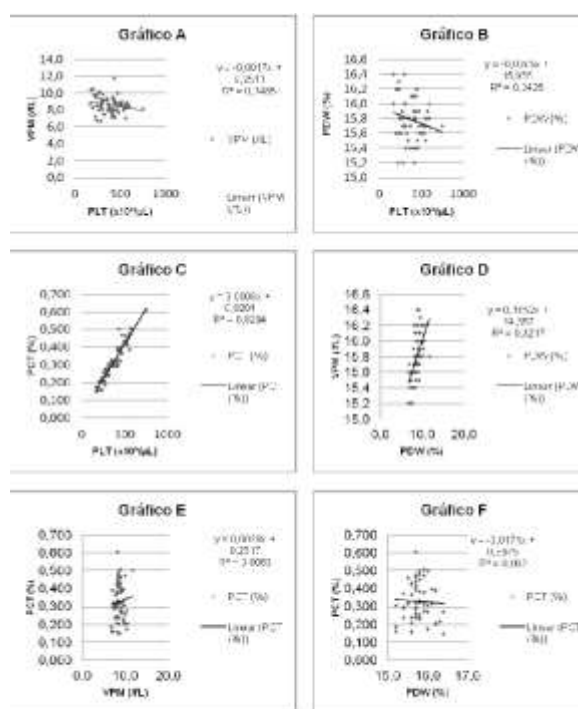


Figura 2 – Gráficos da correlação de Pearson de parâmetros plaquetários do sangue de cães analisados no equipamento de hematologia BC-2800 Vet (Mindray®, Vanshan, China) nos meses de abril a julho de 2015 em Curitiba - PR.

A literatura científica ainda é escassa e não existe uma descrição padronizada com relação a plaquetometria em cães na Medicina Veterinária, devido ao fato destes parâmetros serem relativamente recentes e serem disponibilizados somente nos equipamentos automatizados. É necessário que novos estudos sejam realizados para obter-se maior segurança em relação a estes valores, para que sejam aplicados na rotina clínica e correlacionados com o histórico e a condição clínica do paciente.

CONCLUSÃO

A contagem automatizada apresentou boa correlação com a estimativa de plaquetas em lâmina e pode ser útil na rotina clínica. Observou-se que a média do valor de plaquetócrito apresentou um aumento estatisticamente significativo em animais com neoplasia, independentemente do tipo, comparado com a média dos animais saudáveis. Os parâmetros de

concentração de plaquetas e plaquetócrito podem ser interpretados associados por possuírem boa correlação, assim como o volume plaquetário médio com o plaquetócrito.

REFERÊNCIAS

- ABIDI, P.; FAGHIH, I.E.; TALAEI, M.; TALAEI, M. Population-based platelet reference values for Iranian population. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 29, p.195-199, 2007.
- CHISHOLM-CHAIT A. Mechanisms of thrombocytopenia in dogs with cancer. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian** 22:1006–1018, 2000.
- ETTINGER, S. N. Principles of treatment for canine lymphoma. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 92-97, 2003.
- FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Shalm's Veterinary Hematology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 501-508.
- FERREIRA, G.S.; MASSON, G. C.I.H.; GALVÃO, A.L.B. et al. Determinação de novos parâmetros do hemograma em cães saudáveis da região norte do Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n. 2, mar. 2012.
- KUTER, D.J. The physiology of platelet production. **Stem Cells**, v. 14, n. S1, p. 88-101, 1996.
- MANDELL, C. P. Essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Shalm's Veterinary Hematology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 501-508.
- LEVINE, S.P. Thrombocytosis. In: LEE, G.R.; FOERSTER, J.; LUKENS, J.; WINTROBE, M.M., eds. **Wintrobe's Clinical Hematology**, 10th edition, 1648–1660. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
- OGILVIE, G.K. Síndromes paraneoplásicas. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004. cap.97, p.529-537.
- OLIVEIRA, K.M.; SANTOS, R.H.; SILVA, C.M.O. Principais síndromes paraneoplásicas em cães e gatos. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.17; p. 2073, 2013.
- OLSEN, L. H.; KRISTENSEN, A. T.; QVORTUP, K.; PEDERSEN, H. D. Comparison of manual and automated methods for determining platelet counts in dogs with macrothrombocytopenia. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v.16, n.2, p.167-170, 2004.
- RIBAS, C. R.; DORNBUSCH, P. T.; DE FARIA, M. R.; CIRIO, S. M.; DE FIGUEIREDO WOUK, A. F. P. Coagulograma de 35 cadelas com neoplasias mamárias. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.37, n. 1, p. 83-87, 2015.
- RODIGHERI, S.M.; DALECK, C. R.; CALAZANS, S. G. et al. Neuropatia paraneoplásica associada ao mastocitoma canino. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 819-822, 2008.
- SASAKI Y, T.; MIYAZAKI, H.; KATO, T. et al. Production of thrombopoietin by human carcinomas and its novel isoforms. **Blood**, v. 94, n. 6, p. 1952-1960, 1999.
- SHAW, D.; IHLE, S. **Doenças oncológicas**. IN:_____. Medicina interna de pequenos animais. Porto Alegre: Artes Médicas, 1999, cap. 50, p. 630-648.
- SILVA, A. L. M., CANESIN, A. P. M. N.; DE CÁPUA, M. L. B. et al. Avaliação plaquetária de cães com linfoma submetidos à quimioterapia, transplante

de medula óssea e fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF). **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 8, n. 3, p. 307-317, 2010.

SILVA, P.F.N.; BALARIN, M. R. S.; MARUCHI, H. P. et al. Correlação entre o hemocítômetro e outras técnicas de rotina para a contagem do número de plaquetas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 4, p. 659-664, 2007.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. **Plaquetas**. IN: _____. Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária, 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, cap. 4, p. 187-212.

STOKOL, T.; ERB, H.N. A comparison of platelet parameters in EDTA and citrate anticoagulated blood in dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 2, p. 148-154, 2007.

TASKER, S.; CRIPPS, P. J.; MACKIN, A. J. Evaluation of methods of platelet counting in the cat. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 42, n. 7, p. 326-332, 2001.

TVEDEN, H.; GRABSKI S, F.L.; FRAME, L. Estimating platelets and leukocytes on canine blood smears. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 17, N.1, P. 4-6, 1988.

WIWANITKIT, V. Hemoglobin Tak an unstable hemoglobin from Thailand. **Haematology**, v.7, p.310– 12, 2004.